



## Nrf2-deficient mice are highly susceptible to cigarette smoke-induced emphysema

著者	飯塚 尚志
内容記述	"2006" Offprint. Originally published in: Genes to cells, v. 10, no. 12, pp. 1113-1125, 2005 Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (A), no. 4421, 2007.3.23 Accompanied by 5 subarticles Includes bibliographical references
発行年	2007
その他のタイトル	喫煙曝露によるマウス肺気腫形成に及ぼす転写因子 Nrf2の影響
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/91567">http://hdl.handle.net/2241/91567</a>

氏 名（本籍）	飯塚尚志（東京都） <small>いいづか たかし</small>		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博 甲 第 4421 号		
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<b>Nrf2-deficient mice are highly susceptible to cigarette smoke-induced emphysema</b> (喫煙曝露によるマウス肺気腫形成に及ぼす転写因子 Nrf2 の影響)		
主 査	筑波大学教授	医学博士	榊 原 謙
副 査	筑波大学助教授	博士（医学）	飯 嶋 達 生
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	高 橋 毅 法
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	石 川 成 美

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

慢性閉塞性肺疾患は吸入有害物質に対する肺の炎症であり，進行性の気流制限を特徴とする疾患である。炎症に加え，吸入有害物質に起因するプロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡，および酸化ストレスは相互に作用し肺実質の破壊によって肺気腫が形成される。生体は有害物質に対する様々な防御系を有しており，肺気腫の発症感受性は有害物質と生体側防御因子とのバランスで規定される。転写因子 Nrf2 は抗酸化ストレス酵素や解毒第 2 相酵素の発現を統一的に制御し，酸化ストレスや異物代謝の中心的防御因子と考えられており，本研究では，喫煙曝露による肺気腫形成に対する Nrf2 の役割について検討した。

### (対象と方法)

野生型 Balb/c マウスおよび同系の Nrf2 欠損マウスを実験に用いた。マウスに喫煙曝露し，曝露後 4 週，8 週および 16 週の各時点で肺組織を採取するとともに，気管支肺胞洗浄を施行した。肺気腫形成の程度を光顕レベルで観察するとともに，形態計測，肺機能測定による定量解析を行った。気管支肺胞洗浄液中の好中球数，アルブミン濃度を測定するとともに，tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )，macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) の各濃度を測定した。肺胞マクロファージによる好中球の貪食率を測定するとともに，CD36 分子の発現を解析した。好中球エラスターゼおよびマクロファージエラスターゼ (MMP12) の各発現とともに，アンチプロテアーゼである  $\alpha$ 1-antitrypsin および分泌型ロイコプロテアーゼインヒビター (SLPI) の肺組織における発現を解析した。更に，酸化ストレスの指標として血清 8-isoprostane 濃度を測定するとともに，抗酸化ストレス酵素としてヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1)，ペルオキシレドキシシン I (PrxI)，キノンオキシレダクターゼ (NQO1) の各発現について解析した。これらの結果を野生型マウスおよび Nrf2 欠損マウスの間で比較した。

## (結果)

Nrf2 欠損マウスでは喫煙曝露 8 週以降肺気腫形成を認めたが、野生型マウスでは観察期間を通じて肺気腫形成を認めなかった。気管支肺胞洗浄液中の好中球数は、Nrf2 欠損マウスでは野生型マウスに比べ、曝露 8 週の時点で有意に増加していた。同液中の TNF- $\alpha$ 、MIP-2 の各濃度はともに喫煙曝露により増加したが、両マウス間に有意差は見られなかった。一方、肺胞マクロファージによる好中球の貪食率は、Nrf2 欠損マウスでは野生型マウスに比べ有意に低値であった。野生型マウスでは喫煙曝露により肺組織中の CD36 分子の発現が有意に増加したが、Nrf2 欠損マウスでは同分子の発現誘導が見られなかった。肺組織における好中球エラスターゼの発現、および気管支肺胞洗浄液で同活性はとも Nrf2 欠損マウスで 4 週をピークに著明な増加を認めた。一方、MMP12 は喫煙曝露による発現の増加が認められたが、両マウス間に有意差は見られなかった。 $\alpha$ 1-アンチトリプシンは、発現、活性ともに両マウス間に有意差は認められなかったが、SLPI の発現誘導は野生型マウスでは Nrf2 欠損マウスに比し有意に増強した。8-isoprostane 濃度は、Nrf2 欠損マウスでは曝露 4 週以降に野生型マウスに比べ有意に増加していた。野生型マウスでは喫煙曝露により肺組織の HO-1、PrxI、NQO1 の発現が増加したが、Nrf2 欠損マウスではこれらの発現誘導が見られなかった。

## (考察)

Nrf2 欠損マウスでは喫煙曝露による肺気腫発症感受性の顕著な増加を認めた。同マウスでは好中球性炎症、プロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡、酸化ストレスが全て亢進していた。気管支洗浄液中の TNF- $\alpha$ 、MIP-2 濃度は両マウスで差を認めなかったが、Nrf2 欠損マウスでは CD36 分子の発現低下とともに、肺胞マクロファージの好中球貪食率が低下していた。CD36 分子はアポトーシス好中球の認識、貪食に関わるマクロファージ細胞膜上の分子であり、上記の結果は Nrf2 欠損マウスにおける好中球性炎症亢進の機序として遊走・活性化の亢進より排除の低下を考えさせるものであった。即ち Nrf2 は好中球クリアランスに関わる分子の発現を調節し、好中球性炎症を負に制御するものと思われた。

Nrf2 欠損マウスでは、気管支肺胞洗浄液中の好中球エラスターゼ活性が有意に上昇していた。好中球エラスターゼ活性はエラスターゼとアンチエラスターゼのバランスで規定される。今回の研究では好中球エラスターゼの発現は両マウスで差がないものの、Nrf2 欠損マウスでは SLPI の発現が著しく低下していたことより、同マウスによるプロテアーゼダメージは SLPI を始めとしたアンチエラスターゼの発現低下によるものと考えられた。SLPI は局所で産生されるセリンプロテアーゼインヒビターであり、好中球プロテアーゼの抑制めほかに、炎症性メディエーターの分泌も抑制することが知られている。以上より Nrf2 はアンチプロテアーゼの発現調節を介して肺のプロテアーゼダメージを抑制する因子であると考えられた。

Nrf2 欠損マウスでは複数の抗酸化ストレス酵素の発現が低下し 8-isoprostane レベルが有意に増加していた。喫煙はその煙中に含まれるオキシダントや炎症細胞より二次的に産生されるオキシダントにより酸化ストレスを引き起こすことが知られているが、Nrf2 は抗酸化ストレス遺伝子の発現調節を介し、喫煙による酸化ストレスを抑制する重要な分子であると思われた。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、野生型マウスおよび同系の Nrf2 欠損マウスを用い、転写因子 Nrf2 は喫煙による肺気腫発生を抑制するのに重要な働きを果たしていることを示した。なお本論文は、飯塚尚志氏が筆頭著者として Genes to Cells にすでに掲載されている。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。